

**Untersuchungen zur
hyaluronidasehemmenden Wirkung
mehrfacher Adrenalinapplikationen**

Panagiotis G. Tsachiotis

1972

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Untersuchungen zur hyaluronidasehemmenden Wirkung
mehrfacher Adrenalinapplikationen

Inaugural - Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Panagiotis G. Tsachiotis

aus

Patras / Griechenland

1972

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 31. 7. 72



Meiner geliebten Frau Renate

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich für die Überlassung des Themas, und Herrn Professor Dr. H. Mathies bin ich für die Beratung während der Durchführung der Versuche und der Abfassung der Arbeit zu besonderem Dank verbunden. Die statistische Auswertung wurde freundlicherweise von Herrn Dipl.-Math. Walter J. Ziegler übernommen.

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
Problematik	1
Methodik und Versuchsanordnung	5
Versuchsreihen und Ergebnisse	7
Statistische Auswertung	17
Diskussion und Zusammenfassung	19
Literaturverzeichnis	21

PROBLEMATIK

Im Verlauf größerer Untersuchungsreihen über die Wirkungsweise hyaluronidasehemmender Substanzen, wurde die Vermutung geäußert, daß ein über das Nebennierenmark laufender Mechanismus vorliegt. Im einzelnen haben Untersuchungen von MATHIES und Mitarbeitern gezeigt, daß hyaluronidasehemmende Stoffe wie Salicylate^{1,2}, Butazonderivate³ und Glucocorticoide⁴ nur bei intakten Ratten, nicht dagegen bei adrenaletomierten Tieren hemmend auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreeding wirken.¹⁻⁴

Damit war wahrscheinlich, daß die Anwesenheit der Nebennieren für den hyaluronidasehemmenden Effekt erforderlich ist, ohne daß zunächst die Frage geklärt war, ob die Nebennierenrinde oder das Nebennierenmark den hier entscheidenden Anteil darstellt.

Untersuchungen von DOMENJOZ⁵ hatten bereits gezeigt, daß der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren, der nach SAYERS und SAYERS⁶ als Ausdruck der Nebennierenrinden-Aktivierung zu werten ist, unter den geprüften hyaluronidasehemmenden Substanzen signifikant abnimmt. Hiermit schien eine nebennierenrinden-aktivierende Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen gesichert.

Dieser Effekt fehlte jedoch bei hypophysenektomierten Tieren, womit bewiesen war, daß die rindenaktivierende Wirkung über die Hypophyse verläuft.

Andererseits haben MATHIES^{1-4,7} und Mitarbeiter zeigen können, daß der hyaluronidasehemmende Effekt entsprechend wirksamer Substanzen bei hypophysenektomierten Ratten erhalten bleibt. Damit war entschieden, daß die zwar vorhandene rindenaktivierende Wirkung der hyaluronidasehemmenden Stoffe nicht für das Zustandekommen ihres hyaluronidasehemmenden Effektes verantwortlich gemacht werden kann.

Da andererseits jedoch die Anwesenheit der Nebennieren für das Auftreten eines hyaluronidasehemmenden Effektes erforderlich war, blieb anzunehmen, daß eine über dem Nebennierenmark laufende Wirkung vorliegt.

Weitere Untersuchungen hatten zum Ziel, diese Vermutung weiter zu sichern.

So konnte gezeigt werden, daß die Nebennierenmark-Katecholamine, Adrenalin und Noradrenalin bei intravenöser Applikation an intakten und adrenaletomierten Tieren eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität bedingen, die in der gleichen Größenordnung liegt, wie sie nach Salicylaten, Phenylbutazon und Glucocorticoiden beobachtet wurde.⁸⁻⁹

Ferner konnte durch Bestimmung des Katecholamingehaltes der Nebennieren ein deutlicher Abfall nach Gabe hyaluronidasehemmender Substanzen festgestellt werden.

Schließlich war es möglich, durch vorherige Applikation von Adrenolytica, die hyaluronidasehemmende Wirkung der Salicylate, des Phenylbutazons und der Glucocorticoide aufzuheben.⁸

Aus weiteren Untersuchungsreihen ergab sich, daß die Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität nicht auf dem üblichen pharmakologischen Katecholamineffekt beruht, sondern erst bei einem Abfall des vorher durch Freisetzung aus dem Nebennierenmark oder durch experimentelle Zufuhr erhöhten Katecholaminspiegels erfolgt. So trat zum Beispiel der hyaluronidasehemmende Effekt nach einmaliger Adrenalinapplikation bei adrenaletomierten Ratten erst zu einem Zeitpunkt auf, zu dem die Pupillenerweiterung längst wieder zurückgegangen war.⁹ Auch vermochte eine über 2 Stunden laufende Adrenalin-Dauerinfusion bei adrenaletomierten Tieren keine Hyaluronidasehemmung aufzulösen. Diese trat erst nach Absetzen der Infusion in Erscheinung.¹⁰

Ein anderes Verhalten wurde bei intakten Ratten beobachtet, bei denen bereits während der Adrenalininfusion eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität auftrat. Diese Erscheinung wurde dahingehend gedeutet, daß die laufende Adrenalinzufuhr, zusätzliche Adrenalin ausschüttung aus dem Nebennierenmark bewirkt, wie sie auch MALORNY¹¹ annimmt. Er konnte bei laufender Adrenalinzufuhr zusätzliche periodische Blutdrucksteigerungen an der Katze beobachten. Von anderen Autoren wurde jedoch ein solcher Effekt nicht beschrieben.

VOGEL¹², ÜBEL und MAREK bestreiten aufgrund ihrer Untersuchungen den blockierenden Einfluß des Ergotamins auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins. Sie legten jedoch ihren Untersuchungen eine andere Versuchsanordnung zugrunde, in der zunächst die von den bisher genannten Untersuchungsergebnissen abweichende Befunde zu suchen war. Sie wählten als Modell das Hyaluronidase-Ödem der Rattenpfote, das uns für derartige Versuche nicht geeignet erschien. Diese Versuchsanordnung gestattet lediglich eine Aussage über den Gesamtverlauf der Reaktion, ohne einen Blick in die Situation zu jedem beliebigen Zeitpunkt des Versuches zu ermöglichen. Außerdem wurde von den genannten Autoren Adrenalin in wiederholten Gaben mit 15-minütigen Abständen subcutan appliziert und Ergotamin einmalig 10 Minuten nach der ersten Adrenalingabe subcutan injiziert. In der vorgelegten Arbeit ist nicht zu diskutieren, ob die Ergotamingabe als zeitgerecht anzusehen ist. Es sollte vielmehr untersucht werden, ob die wiederholte subcutane Adrenalingabe als geeignete Versuchsanordnung zur Klärung der genannten Fragestellung angesehen werden kann.

Wenn auch durch die Arbeiten von MATHIES und SCHLIERF¹⁰ bereits bekannt war, daß die Adrenalin dauerinfusion bei intakten Ratten noch während der Infusion eine Hyaluronidase-Hemmung hervorruft, so war deren Ausmaß doch relativ gering. So war die Frage zu klären, ob die Versuchsanordnung mit wiederholten subcutanen Adrenalingaben wie

sie VOGEL¹² und Mitarbeiter anwandten, nicht eher den Verhältnissen entspricht, wie sie bei einer Adrenalininfusion vorliegen. Dieses erschien dadurch möglich, daß die Resorption bei subcutanen im Gegensatz zur intravenösen Gabe den Katecholaminspiegel zwar erhöht, bei wiederholten Applikationen jedoch derart nivaliert, daß Niveaudifferenzen, wie sie zur Auslösung des hyaluronidasehemmenden Effektes notwendig sind, nicht in Erscheinung treten.

Die Tatsache, daß VOGEL¹² und Mitarbeiter die von uns angewandte experimentelle Adrenalindosis von 1 γ pro Injektion als zu hoch betrachten, erscheint uns nicht stichhaltig, da die Untersuchungen des Katecholaminspiegels der Nebennieren nach Gaben hyaluronidasehemmender Substanzen beweisen, daß weit mehr Katecholamine aus dem Nebennierenmark ausgeschüttet werden als dieser Dosis entsprechen würde.

Es war somit Aufgabe der vorliegenden Arbeit, mit unserer Methode, die für die Untersuchung des gesamten Problems geeignet erscheint, die Verhältnisse zu klären, die bezüglich des hyaluronidasehemmenden Effektes nach wiederholter subcutaner Adrenalingabe vorliegen.

METHODIK UND VERSUCHSANORDNUNG

Für die Versuche wurden männliche weiße Ratten mit einem Gewicht von 160 - 220 g verwendet.

Die Hyaluronidase-Aktivität wurde an der Ausbreitung einer Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor und nach subcutanen Injektionen von Adrenalin in der Dosis 1 μ g pro 100 g Tier im Abstand von 15 Minuten ermittelt. Die Bauchhaut wurde vor dem Versuch mit Pilca enthaart. Die reine Farbstoff-Quaddel wurde mit 0,1 ccm einer 0,06 %igen Evansblau-Lösung streng intracutan gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung wurden in 2 ccm der oben angegebenen 0,06 %igen Evansblau-Lösung 150 IE Hyaluronidase (Kinetin) gelöst, so daß bei der intracutanen Injektion von 0,1 ccm, 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen.

Ausgewertet wurde die 10 Minuten nach der Injektion erreichte Ausbreitung der Farbstoff-Flecken, da nach MADINA-VEITIA¹³ in dieser Zeit das Spreading ein reiner Hyaluronidase-Effekt ist.

Das Ausbreitungsfeld wurde durch Übertragung der Konturen auf einem Zelluloid-Streifen und anschließende planimetrische Auswertung bestimmt.

Naturgemäß zeigt die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine weitaus raschere Ausbreitung als die reine Farbstoff-Quaddel. Dagegen weist die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine gewisse Hemmung der Ausbreitung auf, wenn eine hyaluronidase-hemmende Substanz appliziert wird.

Die Rattenbauchhaut wurde in 6 Felder aufgeteilt, wobei jedes Feld einer Applikationsposition entsprach. Um lokalisationsbedingte Unterschiede der Farbstoffausbreitung möglichst auszuschalten, wurde bei jedem der Versuchstiere die Quaddeltypen an verschiedenen Positionen gesetzt. Die Quaddellokalisierungen sind für die einzelnen Versuchsserien angegeben.

Die Versuche wurden in Narkose mit 20 mg Evipan-Natrium pro 100 g Tier durchgeführt. Bei mehrstündiger Versuchsdauer erwies sich die Kombination von 20 mg Evipan-Natrium und 8,8 mg Luminal-Natrium pro 100 g Tier als zweckmäßig. Barbiturate beeinflussen die Aktivität der Hyaluronidase nicht.

VERSUCHSREIHEN UND ERGEBNISSE

Für die Versuchsreihen I - VI wurden je eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (Fv und FHv) intracutan gesetzt. Nach Abnahme der Konturen der jeweiligen Ausbreitung, wurde Adrenalin im Abstand von 15 Minuten subcutan injiziert.

Weitere Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln wurden jeweils für die einzelnen Reihen wie folgt gesetzt:

Für

- Reihe I: 7,5 und 30 Minuten nach der ersten Adrenalininjektion (F_1 , FH_1 bzw. F_2 , FH_2).
- Reihe II: 15 und 37,5 Minuten nach der ersten Adrenalininjektion (F_1 , FH_1 bzw. F_2 , FH_2).
- Reihe III: 22,5 und 45 Minuten nach der ersten Adrenalininjektion (F_1 , FH_1 bzw. F_2 , FH_2).
- Reihe IV: 52,5 und 75 Minuten nach der ersten Adrenalininjektion (F_1 , FH_1 bzw. F_2 , FH_2).
- Reihe V: 60 und 82,5 Minuten nach der ersten Adrenalininjektion (F_1 , FH_1 bzw. F_2 , FH_2).
- Reihe VI: 67,5 und 90 Minuten nach der ersten Adrenalininjektion (F_1 , FH_1 bzw. F_2 , FH_2).

In den Tabellen I - XII sind die Versuchsergebnisse und die Lokalisationen angegeben.

L o k a l i s a t i o n

	1	2	3	4	5	6
Tier Nr.						
1	FHv	F ₁	F ₂	FH ₁	Fv	FH ₂
2	FH ₂	FHv	F ₁	F ₂	FH ₁	Fv
3	Fv	FH ₂	FHv	F ₁	F ₂	FH ₁
4	FH ₁	Fv	FH ₂	FHv	F ₁	F ₂
5	F ₂	FH ₁	Fv	FH ₂	FHv	F ₁
6	F ₁	F ₂	FH ₁	Fv	FH ₂	FHv

T a b e l l e I
(Versuchsreihe I, Lokalisationsschema)

Tier Nr.	Fv	F ₁	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂
1	180	145	120	225	182	217
2	095	121	210	210	210	179
3	100	055	045	295	175	128
4	125	145	070	180	119	154
5	115	095	132	218	127	273
6	115	094	081	285	135	205
Mittelwert:	121,7	109,2	109,7	235,5	158	192,7

T a b e l l e II
(Versuchsreihe I, Ergebnisse in mm²)

L o k a l i s a t i o n

	1	2	3	4	5	6
Tier Nr.						
1	F ₂	FH ₂	F ₁	FH ₁	FHv	Fv
2	Fv	F ₂	FH ₂	F ₁	FH ₁	FHv
3	FHv	Fv	F ₂	FH ₂	F ₁	FH ₁
4	FH ₁	FHv	Fv	F ₂	FH ₂	F ₁
5	F ₁	FH ₁	FHv	Fv	F ₂	FH ₂
6	FH ₂	F ₁	FH ₁	FHv	Fv	F ₂

T a b e l l e III
(Versuchsreihe II, Lokalisationsschema)

Tier Nr.	Fv	F ₁	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂
1	123	051	085	202	191	140
2	080	090	061	193	251	193
3	134	101	075	290	195	141
4	096	052	069	235	181	154
5	161	124	074	210	105	180
6	100	185	055	223	240	212
Mittelwert:	115,7	100,5	69,8	225,5	193,8	170

T a b e l l e IV
(Versuchsreihe II, Ergebnisse in mm²)

L o k a l i s a t i o n

	1	2	3	4	5	6
Tier Nr.						
1	FH ₂	FH ₁	FHv	F ₂	Fv	F ₁
2	F ₁	FH ₂	FH ₁	FHv	F ₂	Fv
3	Fv	F ₁	FH ₂	FH ₁	FHv	F ₂
4	F ₂	Fv	F ₁	FH ₂	FH ₁	FHv
5	FHv	F ₂	Fv	F ₁	FH ₂	FH ₁
6	FH ₁	FHv	F ₂	Fv	F ₁	FH ₂

T a b e l l e V
(Versuchsreihe III, Lokalisationsschema)

Tier Nr.	Fv	F ₁	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂
1	105	105	113	266	180	177
2	100	087	085	279	090	085
3	105	095	213	225	198	122
4	085	112	103	224	199	216
5	121	085	112	232	156	122
6	091	105	101	241	200	206
Mittelwert:	098	098	121,1	244,5	162,1	154,6

T a b e l l e VI
(Versuchsreihe III, Ergebnisse in mm²)

L o k a l i s a t i o n

	1	2	3	4	5	6
Tier Nr.						
1	F ₂	FH ₂	FHv	F ₁	Fv	FH ₁
2	FH ₁	F ₂	FH ₂	FHv	F ₁	Fv
3	Fv	FH ₁	F ₂	FH ₂	FHv	F ₁
4	F ₁	Fv	FH ₁	F ₂	FH ₂	FHv
5	FHv	F ₁	Fv	FH ₁	F ₂	FH ₂
6	FH ₂	FHv	F ₁	Fv	FH ₁	F ₂

T a b e l l e VII
(Versuchsreihe IV, Lokalisationsschema)

Tier Nr.	Fv	F ₁	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂
1	100	097	105	220	155	185
2	118	110	092	255	215	145
3	091	102	055	165	205	192
4	085	103	070	247	191	204
5	080	085	055	187	191	125
6	082	060	052	173	185	160
Mittelwert:	093	093	072	207	193	169

T a b e l l e VIII
(Versuchsreihe IV, Ergebnisse in mm²)

L o k a l i s a t i o n

	1	2	3	4	5	6
Tier Nr.						
1	F ₁	Fv	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂
2	FH ₂	F ₁	Fv	F ₂	FHv	FH ₁
3	FH ₁	FH ₂	F ₁	Fv	F ₂	FHv
4	FHv	FH ₁	FH ₂	F ₁	Fv	F ₂
5	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂	F ₁	Fv
6	Fv	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂	F ₁

T a b e l l e IX
(Versuchsreihe V, Lokalisationsschema)

Tier Nr.	Fv	F ₁	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂
1	109	120	112	205	172	125
2	097	115	106	185	160	134
3	136	087	183	195	185	082
4	095	092	090	200	108	160
5	092	100	084	190	219	125
6	090	080	065	213	150	160
Mittelwert:	103	094	107	198	169	131

T a b e l l e X
(Versuchsreihe V, Ergebnisse in mm²)

L o k a l i s a t i o n

	1	2	3	4	5	6
Tier Nr.						
1	FH ₂	F ₂	FHv	Fv	FH ₁	F ₁
2	F ₁	FH ₂	F ₂	FHv	Fv	FH ₁
3	FH ₁	F ₁	FH ₂	F ₂	FHv	Fv
4	Fv	FH ₁	F ₁	FH ₂	F ₂	FHv
5	FHv	Fv	FH ₁	F ₁	FH ₂	F ₂
6	F ₂	FHv	Fv	FH ₁	F ₁	FH ₂

T a b e l l e X I
(Versuchsreihe VI, Lokalisationsschema)

Tier Nr.	Fv	F ₁	F ₂	FHv	FH ₁	FH ₂
1	139	121	110	241	181	152
2	118	110	091	229	193	168
3	110	101	080	243	175	150
4	121	115	120	269	200	155
5	120	112	080	211	195	155
6	092	112	082	265	212	210
Mittel- wert:	117	112	094	242	191	172

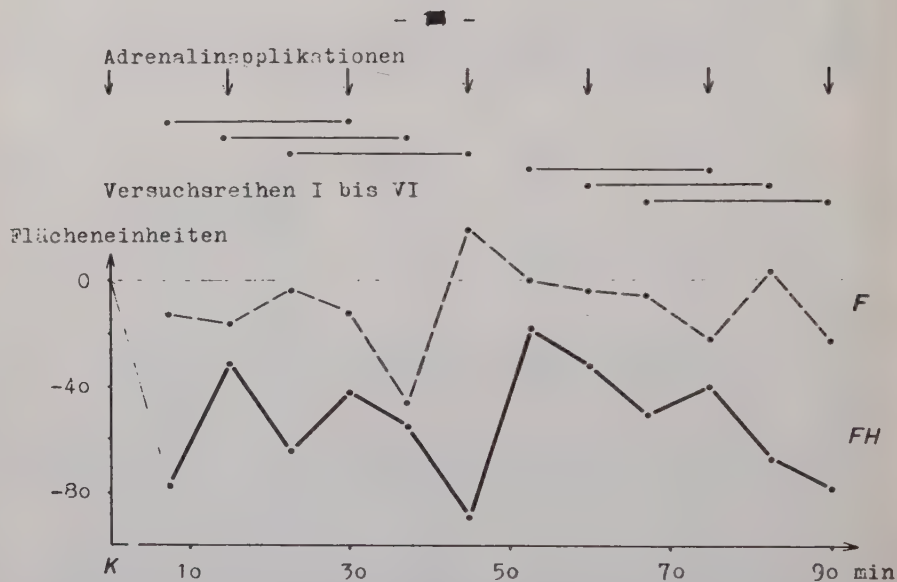
T a b e l l e X I I
(Versuchsreihe VI, Ergebnisse in mm²)

Tabelle XIII: Kontrollwerte K und Meßwerte der Farbstoffausbreitung bei 15 min wiederholter Adrenalinapplikation

Versuchsreihe	Anzahl der Beob.	Zeit t nach l. Injekt. (min)	Farbstoff-Quaddeln			Farbstoffhyal.-Quaddeln		
			Mittel	m.q.A.	Ausbreitg./Hemmung + (%)	Mittel	m.q.A.	Ausbreitg./Hemmung + (%)
			$\bar{x}$	+ $s_{\bar{x}}$	stat.gesich.	$\bar{x}$	+ $s_{\bar{x}}$	stat.gesich.
I	6	K	122	12.4		235	18.3	
	.	75'	109	14.2	- 11	158	14.8	- 33
	.	30'	110	23.9	- 10	193	20.8	- 18
II	6	K	116	12.0		225	14.2	
	.	15'	100	20.5	- 14	194	21.2	- 14
	.	37.5'	70	4.3	- 40	170	12.1	- 24
III	6	K	101	5.1		244	9.3	
	.	22.5'	98	4.4	- 3	170	17.5	- 30
	.	45'	121	18.8	+ 20	155	21.5	- 36
IV	6	K	93	5.8		208	15.6	
	.	52.5'	93	7.3	0	190	8.3	- 9
	.	75'	71	9.0	- 24	168	12.3	- 19
V	6	K	103	7.1		198	4.1	
	.	60'	99	6.4	- 4	166	15.1	- 16
	.	82.5'	107	16.7	+ 4	131	11.7	- 34
VI	6	K	117	9.6		234	8.9	
	.	67.5'	112	2.6	- 4	193	5.4	- 21
	.	90'	95	3.3	- 19	165	9.3	- 32

Tabelle: XIV

Versuchsreihe: Beobachtungszeiten (min)	Varianz- komponente	FG	Farbstoffquaddeln		P	Farbstoffhyaluronidasequaddeln	
			SAQ	MAQ		SAQ	MAQ
					F _{emp}		F _{emp}
							k
I: K-7.5'-30'	gesamt	17	28607			47865	
	zw. Tieren	5	13508	2701.6	1.86	7331	1466.2
	zw. Stufen	2	601	300.5	0.20	18086	9043.0
	Rest	10	14498	1449.8		22448	2244.8
II: K-15'-37.5'	gesamt	17	24070			33263	
	zw. Tieren	5	5778	1155.6	0.98	7801	1560.2
	zw. Stufen	2	6542	3271.0	2.78	10393	5196.5
	Rest	10	11750	1175.0		15069	
III: K-22.5'-45'	gesamt	17	13913			53318	
	zw. Tieren	5	3991	798.2	0.99	10393	2078.6
	zw. Stufen	2	1902	951.0	1.18	27593	13796.0
	Rest	10	8020	802.0		15332	1533.2
IV: K-52.5'-75'	gesamt	17	6946			18752	
	zw. Tieren	5	3804	760.8	5.69	4833	966.6
	zw. Stufen	2	1806	903.0	6.76	4660	2330.0
	Rest	10	1336	133.6		9259	925.9
V: K-60'-82.5'	gesamt	17	11327			25018	
	zw. Tieren	5	6034	1206.8	2.36	1476	295.2
	zw. Stufen	2	176	88.0	0.17	13472	6736.0
	Rest	10	5117	511.7		10070	1007.0
VI: K-67.5'-90'	gesamt	17	4613			24660	
	zw. Tieren	5	1942	388.4	4.16	3822	764.4
	zw. Stufen	2	1738	869.0	9.41	18766	9383.0
	Rest	10	933	93.3		2072	207.2



Darstellung 1. Veränderungen von Farbstoffquaddeln F und Farbstoffhyaluronidasequaddeln FH durch Adrenalinapplikationen im Experiment an 36 Ratten.

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Durch Versuche mit Farbstoff- und Farbstoffhyaluronidasequaddeln in den Anordnungen lateinischer Quadrate ist die medizinische Fragestellung nach den Veränderungen der Hyaluronidaseaktivität zu erfassen. Der Einfluß von Adrenalin drückt sich dabei meßtechnisch als Veränderung beobachteter Flächeninhalte gegenüber Vor- und Kontrollwerten der Quaddelausbreitung aus.

Mathematisch statistisch sind diese quantitativen Veränderungen zahlenmäßig zu erfassen. Die Auswertung sichert nach wahrscheinlichkeitstheoretischen Überlegungen anhand von mehrfachen Beobachtungen den Verlauf dieser Veränderungen. Die Versuchsreihen I bis VI dienen dazu, eine Wirkung subcutan verabreichten Adrenalins auf die Ausbreitung von Farbstoffhyaluronidasequaddeln an intakten Ratten festzustellen.

Die vorliegenden Meßreihen werden zunächst durch die statistischen Maßzahlen Mittelwert $\bar{x}$ und mittlere quadratische Abweichung (m.q.A.) $s_{\bar{x}}$ beschrieben. Für die Prüfung von Unterschieden sind die Einflüsse versuchsbedingter Variabilitäten zu berücksichtigen. In einer zweifachen Varianzanalyse läßt sich die Gesamtvarianz nach drei Komponenten trennen und damit unter Berücksichtigung des Einflusses der Variabilität zwischen den Tieren und der Komponente zwischen den Stufen einer Restvarianz finden, die als methodische Variabilität bezeichnet werden kann. Aus ihrem Verhältnis zur Komponente zwischen den Beobachtungsstufen ist mittels des Quotiententests ($F_{\text{emp.}}$) nach FISHER auf tatsächlich bestehende Unterschiede zwischen den Beobachtungen verschiedener Zeiten zu schließen, soweit die zugelassene Irrtumswahrscheinlichkeit $p = 0,05$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung nicht überschritten wird.

Als Ergebnisse der mathematisch statistischen Analyse sind die Freiheitsgrade FG der Varianzkomponente, Summenabstandsquadrate SAQ und Mittlere Abstandsquadrate MAQ, die Varianzquotienten F_{emp} zwischen jeweiliger Komponente und Restvarianz, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit p angegeben, die ein Maß der Sicherheit für die getroffene Entscheidung (Differenz der Mittelwerte $\bar{x}_d \neq 0$) darstellt. Die Ausbreitung der Quaddeln in % bezieht sich auf die beobachteten zugehörigen Kontrollwerte (100 %).

Die Tabelle XIII beschreibt Mittelwerte $\bar{x}$ und mittlere quadratische Abweichungen (m.q.A.) $s_{\bar{x}}$, die Meßergebnisse der experimentellen Untersuchungen sind. Die beobachtete Farbstoffausbreitung bezieht sich auf den jeweiligen Kontrollwert K in %.

Mathematisch statistische Analyse und Interpretation der Testergebnisse

Über den gesamten Beobachtungszeitraum von 90 min, gerechnet von der ersten Adrenalininjektion an, ist den Versuchsreihen nach für Farbstoffhyaluronidasequaddeln gegenüber bloßen Farbstoffquaddeln eine um 10 bis 20 % stärkere Hemmung der Farbstoffausbreitung festzustellen und zu sichern ($p \leq 0.05$). Die regelmäßig wiederholten Adrenalinapplikationen halten damit - bezogen auf die Kontrollwerte zu Beginn der Versuchsreihen - eine mehr oder minder konstant anzusprechende Hemmung der Hyaluronidaseaktivität aufrecht (Darstellung 1).

Die scheinbare Verkleinerung der bloßen Farbstoffquaddeln bis zu 40 min Dauer ist als streuungsbedingt anzusehen und tatsächlich statistisch nur selten zu sichern.

Varianzanalysen: Tabelle XIV

DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß bei intakten Ratten viertelstündlich subcutane Adrenalininjektionen von je $1\gamma/100$ g Körpergewicht zu einer maximalen Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität führen. Dabei zeigt sich, daß zu Beginn des Versuches nach den ersten drei Adrenalininjektionen auf jeder dieser Adrenalinapplikationen eine deutliche Zunahme der Hyaluronidasehemmung mit anschließender partieller Abnahme erfolgt. Nach der dritten Injektion wird dieser Wiederanstieg jedoch vermißt, und wird erst nach der vierten Applikation wieder deutlich. Das gleiche gilt für die fünfte Applikation.

Das Ausmaß der maximalen Hemmung ist stärker als das während einer intravenösen Adrenalin-Dauerinfusion bei intakten Ratten, wie sie SCHLIEFF¹⁰ in seinen Versuchen anwandte.

Damit trifft die eingangs diskutierte Vermutung nicht zu, daß wiederholte subcutane Adrenalinapplikationen Verhältnisse schaffen, wie sie bei einer Adrenalin-dauerinfusion vorliegen.

VOGEL¹² und Mitarbeiter hatten bei gleichem Applikationsmodus des Adrenalins (alle 15 Minuten eine subcutane Injektion) keine Aufhebung des hyaluronidasehemmenden Effektes des Adrenalins durch Ergotamin erzielen können. Da die Ursache der negativen Ergebnisse dieser Autoren nicht in dem gewählten Applikationsmodus des Adrenalins zu suchen ist, muß daher angenommen werden, daß der ebenfalls gegenüber den Versuchen von MATHIES und Mitarbeitern abgewandelte Applikationsmodus des Ergotamins die Ursache für die negativen Ergebnisse darstellt.

Den Beweis hierfür konnte KENNEL¹⁴ erbringen, indem er feststellte, daß das Ergotamin zeitgerecht vor der ersten Adrenalinapplikation gegeben werden muß, um den hyaluronidasehemmenden Effekt des Adrenalins blockieren zu können.

LITERATURVERZEICHNIS

1. MATHIES, H. u. A. JANKOWSKI: Klin. Wschr. 35, 1676 (1957)
2. MATHIES, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
3. MATHIES, H., I. BIECHELE u. M. HARTMANN:
Ärztl. Forsch. XIV, I/160 (1960)
4. MATHIES, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
5. DOMENJOZ, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
6. SAYERS, G. u. M. SAYERS: Endocrinology 40, 256 (1947)
7. MATHIES, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
8. MATHIES, H., A. GLÜCK, J. POULANTZAS u. D. SCHMIDT:
Med. Exp. 1, 64 (1959)
9. MATHIES, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
10. MATHIES, H. u. G. SCHLIERF: Med. Exp. 2, 334 (1960)
11. MALORNY, G.: Deutsch. med. J. 4, 1 (1955)
12. VOGEL, G., H. ÜBEL u. M.-L. MAREK: Zschr. ges. exp. Med.
134, 1 (1960)
13. MADINAVEITIA, J.: Biochemie J. 32, 1806 (1938)
14. KENNEL, K.: in Vorbereitung

LEBENS LAUF

Als zweites von drei Kindern des Hals-Nasen-Ohren Facharztes Georgios P. Tsachiotis und seiner Ehefrau Urania geb. Ziwas wurde ich am 7. März 1939 in Patras/Griechenland geboren.

Nach sechs Jahren Volksschule besuchte ich das III. Realgymnasium in Patras, wo ich im Juni 1956 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1956/57 begann ich das Medizinstudium an der Universität München und bestand dort im Frühjahr 1959 die ärztliche Vorprüfung.

Meine klinischen Semester verbrachte ich ebenfalls in München, wo ich im Juli 1963 das medizinische Staatsexamen bestand.

Meine Medizinalassistentenzeit absolvierte ich im Städtischen Krankenhaus München-Schwabing und in der II. Universitätsfrauenklinik München.

Nach kurzer chirurgischer Assistententätigkeit begann ich 1967 mit der Weiterbildung zum Facharzt für Gynäkologie und Geburtshilfe. Nach vierjähriger Assistententätigkeit in diesem Fach befinde ich mich jetzt kurz vor Beendigung meiner Weiterbildungszeit.

